

Penapisan Bakteri Filosfer Penghasil Senyawa Bioaktif Anti *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* Penyebab Penyakit Hawar Daun Bakteri pada Padi

Rina Nurfitriani¹, Ni Putu Ratna Ayu Krishanti², Alina Akhdiya³, Aris Tri Wahyudi^{1*}

¹Departemen Biologi, Fakultas MIPA Institut Pertanian Bogor

Jl. Raya Darmaga Kampus IPB Darmaga Bogor 16680, Jawa Barat, Indonesia

²Pusat Penelitian Biomaterial – Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia.

Jl. Raya Bogor Km 46, Cibinong-Bogor 16192

³Balai Besar Litbang Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian.

Jl. Tentara Pelajar 3A, Cimanggu-Bogor 16111

Diterima 20 April 2016/Disetujui 13 Mei 2016

Bacterial leaf blight caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*) is one of the important diseases in rice crops in Indonesia. The disease is difficult to be controlled since it attacks the rice plant at different growth stages such as tillering, flowering and ripening. One of the alternatives that could be used to control the disease is by using phyllosphere bacteria as the biocontrol agents. This study aims to isolate, characterize and screen the rice phyllosphere bacteria producing bioactive compounds against *Xoo*. Phyllosphere bacteria isolated from healthy leaves of rice var. Ciherang by using 4 different media obtained 285 bacterial isolates which were consisted of the 65 isolates of King's B agar, 86 isolates of Nutrient agar, 81 isolates of Luria-Bertani agar, and 53 isolates of Trypticase Soy agar media. Antagonist test using double layer method showed 58 isolates of phyllosphere bacteria produced bioactive compounds that inhibited the growth of *Xoo*. Pathogenicity test against rice leaf revealed 18 bacterial isolates did not perform their potencies as pathogenic bacteria. Among the 18 non-phytopathogenic bacterial isolates, 14 isolates belong to Gram-positive bacteria and 4 isolates belong to Gram-negative bacteria. Five isolates among Gram positive bacteria were predicted as *Bacillus* genera.

Keywords: Bacterial leaf blight, bioactive compound, phyllosphere bacteria, *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*).

PENDAHULUAN

Padi merupakan komoditas pangan yang sangat penting di Indonesia. Lebih dari 50% populasi penduduk Indonesia mengkonsumsi padi sebagai makanan pokok. Sebagaimana umumnya negara berkembang, Indonesia menghadapi masalah pertumbuhan jumlah penduduk yang tinggi dan penyediaan bahan pangan pokok yang kurang memadai.

Upaya peningkatan produksi padi nasional terus dilakukan pemerintah, namun berbagai kendala seperti masalah penyakit hawar daun bakteri (HDB) menjadi penghambat upaya tersebut (Hanarida *et al.* 2007). HDB merupakan penyakit padi paling serius yang disebabkan oleh bakteri

Xanthomonas oryzae pv. *oryzae* (*Xoo*). Di daerah tropis, penyakit HDB menyerang tanaman padi di berbagai wilayah penghasil padi baik pada musim hujan maupun kemarau (Dinh 2008). Penyakit ini menurunkan kemampuan tanaman untuk melakukan proses fotosintesis karena klorofil daun mengalami kerusakan. Apabila hal ini terjadi pada fase generatif maka proses pengisian gabah menjadi kurang sempurna atau bahkan hampa sehingga dapat menyebabkan kehilangan hasil produksi yang lebih banyak (Sudir *et al.* 2012).

Bakterisida kimia secara rutin umumnya digunakan untuk mengendalikan penyakit HDB di Indonesia. Namun, ketergantungan yang berlebihan pada bakterisida kimia sering menyebabkan pencemaran lingkungan dan meningkatkan resistensi. Selain itu, residu bakterisida pada bulir padi dapat menyebabkan masalah kesehatan pada konsumen. Oleh karena itu, penggunaan agen biokontrol berbasis

*Penulis korespondensi.
E-mail: aristri2011@gmail.com

mikroba dapat digunakan sebagai alternatif pengganti untuk bakterisida kimia (Hastuti 2012).

Fakta bahwa beberapa senyawa bioaktif mikroba memainkan peranan penting dalam mekanisme biokontrol terhadap patogen tanaman tertentu telah mendorong pengembangan senyawa dan atau mikroba penghasilnya menjadi agen biokontrol untuk penggunaan komersial (Dowling & O'Gara 1994). Salah satu sumber agen biokontrol penghasil senyawa bioaktif yang dapat menghambat aktivitas *Xoo* adalah bakteri filosoffer. Sebagai agen biokontrol, bakteri filosoffer berperan penting dalam perlindungan tanaman dari serangan patogen. Data mengenai keragaman bakteri filosoffer asal tanaman padi khususnya di Indonesia terutama yang dapat memproduksi senyawa bioaktif anti *Xoo* masih sangat terbatas. Oleh karena itu tujuan dari penelitian ini adalah mengisolasi dan menapis bakteri filosoffer yang berpotensi sebagai agen biokontrol terhadap patogen penyakit hawar daun bakteri.

BAHAN DAN METODE

Pengambilan Sampel Daun Padi. Pengambilan sampel dilakukan di daerah persawahan Situgede, Kecamatan Bogor Barat, Kota Bogor. Sampel padi yang diambil merupakan rumpun padi sehat (tidak terkena penyakit HDB) varietas Ciherang berumur 2.5 bulan, yang berasal dari petak padi yang terkena penyakit HDB.

Isolasi Bakteri Filosoffer. Satu gram sampel daun padi dipotong-potong berukuran 1 cm² dan direndam dalam larutan fisiologis 0,85% selama ± 30 menit. Kemudian sampel di-vorteks sehingga didapatkan suspensi. Suspensi bakteri diencerkan hingga 10⁻⁶ sel/mL dan disebar pada media padat. Sebanyak 100 µl suspensi disebar pada media *King's B agar* (KBA), *nutrient agar* (NA), *Luria-Bertani agar* (LA), dan *trypticase soy agar* (TSA), kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam. Koloni-koloni tunggal yang tampak berbeda dipilih untuk dimurnikan pada medium yang sama.

Uji Antagonisme Bakteri Filosoffer terhadap *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. Uji antagonisme *in-vitro* ini dilakukan menggunakan metode *double layer* (Lisboa *et al.* 2006), untuk menyeleksi isolat yang berpotensi menghasilkan senyawa bioaktif yang dapat menghambat pertumbuhan *Xoo*. Sebanyak 1 ml (10⁸cfu/ml) kultur cair bakteri *Xoo* diinokulasi ke dalam 100 ml LA semi padat kemudian dituang pada permukaan cawan LA masing-masing sebanyak 10 ml. Setelah permukaan media LA *double layer* memadat, kultur bakteri filosoffer berumur 24 jam dibiarkan meresap pada potongan kertas cakram *Whatman* No.2 (diameter

0,6 cm), kemudian dikering anginkan dan diletakkan di permukaan cawan agar yang telah diinokulasi *Xoo* tersebut. Biakan diinkubasi selama 24 jam kemudian diamati zona hambat di sekeliling cakram. Indeks Penghambatan (IP) dihitung dengan menggunakan persamaan sebagai berikut:

$$IP = \frac{\{\text{diameter zona bening (cm)} - \text{diameter cakram (cm)}\}}{\text{diameter cakram (cm)}}$$

Uji Hipersensitivitas pada Tembakau. Uji hipersensitivitas isolat bakteri terhadap tanaman tembakau dilakukan menurut Zou *et al.* (2006). Kultur cair isolat bakteri filosoffer dengan kerapatan ±10⁸ cfu/ml dalam kultur cair disuntikkan ke daun tanaman tembakau menggunakan *syringe* 1 ml (tanpa jarum). Sebagai kontrol positif digunakan *Xoo* STG 21, sedangkan untuk kontrol negatif digunakan *Escherichia coli* DH5a dan akuades steril. Pengamatan gejala penyakit dilakukan hingga 48 jam setelah penyuntikan.

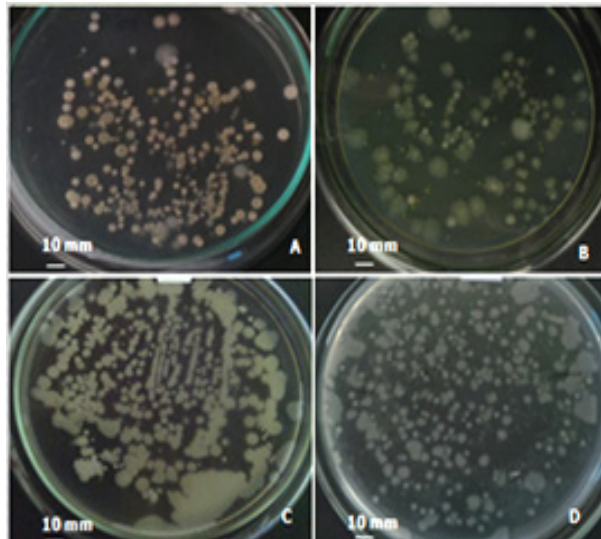
Uji Patogenisitas pada Padi. Benih padi IR64 yang telah disterilisasi permukaannya dengan Natrium-hipoklorit 2% ditumbuhkan dalam keadaan steril di dalam *growth chamber* hingga berusia dua minggu. Ujung daun padi selanjutnya digunting dan dicelupkan kedalam suspensi bakteri uji (kerapatan ±10⁸ cfu/ml) selama ±10 detik. Pengamatan gejala penyakit dilakukan pada 3 dan 14 hari setelah inokulasi (Wahyudi *et al.*, 2011) Uji patogenisitas dinyatakan positif jika bakteri yang diinokulasikan menyebabkan penyakit pada daun padi dan dinyatakan negatif jika bakteri yang diinokulasikan tidak menyebabkan penyakit pada daun padi.

Pewarnaan Gram dan Pewarnaan Endospora. Karakterisasi terbatas isolat-isolat bakteri dilakukan pada 18 isolat bakteri yang tidak bersifat patogenik pada tanaman yang dilakukan dengan teknik pewarnaan Gram. Isolat yang termasuk bakteri Gram positif dan berbentuk batang selanjutnya diamati keberadaan struktur endosporanya menggunakan metode pewarnaan spora (Lay 1994).

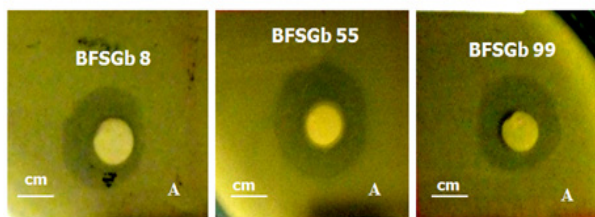
HASIL

Isolasi Bakteri Filosoffer. Sebanyak 285 isolat bakteri filosoffer berhasil diisolasi dari rumpun padi sehat varietas Ciherang berumur 2.5 bulan asal Situgede, Bogor. Isolasi dengan menggunakan empat media yang berbeda menghasilkan jumlah isolat bakteri yang bervariasi (Gambar 1). Dari media LA diperoleh 81 isolat, dari media NA diperoleh 86 isolat, dari media TSA diperoleh 53 isolat, dan dari media KBA diperoleh 65 isolat.

Uji Antagonisme Bakteri Filosfer Terhadap *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. Sebanyak 58 isolat dari 285 isolat yang diperoleh menunjukkan kemampuan dalam menghambat *Xoo* secara *in-vitro*. Aktivitas penghambatan tersebut terlihat dari adanya zona bening di sekitar isolat bakteri filosfer yang diuji (Gambar 2).



Gambar 1. Koloni-koloni bakteri filosfer padi yang tumbuh pada media KBA (A), NA (B), LA (C), dan TSA (D).



Gambar 2. Zona hambat isolat bakteri BFSGb 8 (A), BFSGb 55 (B), dan BFSGb 99 (C) terhadap *Xoo*.

Tabel 1. Jumlah isolat bakteri filosfer padi yang mampu menghambat pertumbuhan *Xoo* dan nilai indeks penghambatannya

Indeks penghambatan (IP)	Jumlah isolat
+++++	2
++++	3
+++	20
++	20
+	13

Keterangan: +++++ : > 2.00

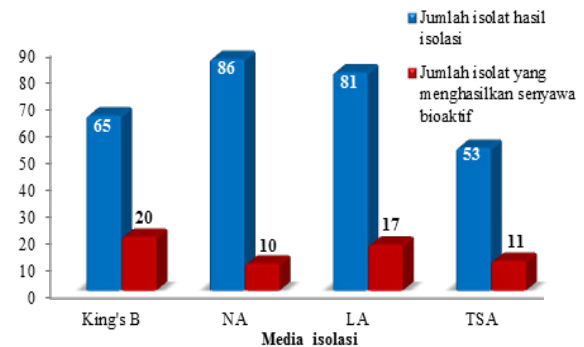
++++ : IP 1.51 – 2.00

+++ : IP 1.01-1.50

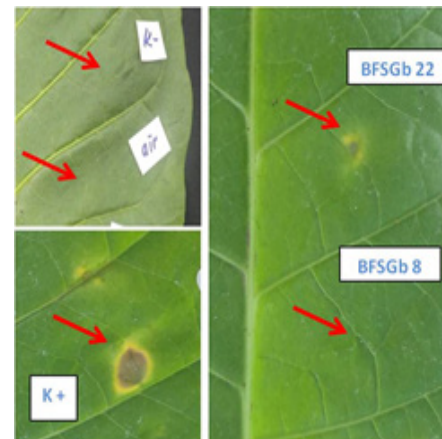
++ : IP 0.51 – 1.00

+ : IP < 0.50

Diantara 58 isolat tersebut, 34% merupakan isolat yang diisolasi menggunakan media KBA, 17% menggunakan media NA, 29% menggunakan media LA, dan 19% menggunakan media TSA (Gambar 3; Tabel 1). Hasil ini menunjukkan bahwa media KBA lebih sesuai untuk media isolasi bakteri filosfer yang bersifat antagonis terhadap *Xoo*.



Gambar 3. Perbandingan isolat bakteri filosfer yang diperoleh dengan isolat bakteri filosfer penghasil senyawa bioaktif anti-*Xoo*.



Gambar 4. Hasil uji *hypersensitive respon* pada daun tembakau dengan akuades steril (Air), *E. coli* DH5α (K-), *Xoo* STG 21 (K+), isolat BFSGb 22, dan isolat BFSGb 8. Anak panah menunjukkan bagian daun yang diinokulasi bakteri filosfer.

Uji Hipersensitivitas pada Tembakau.

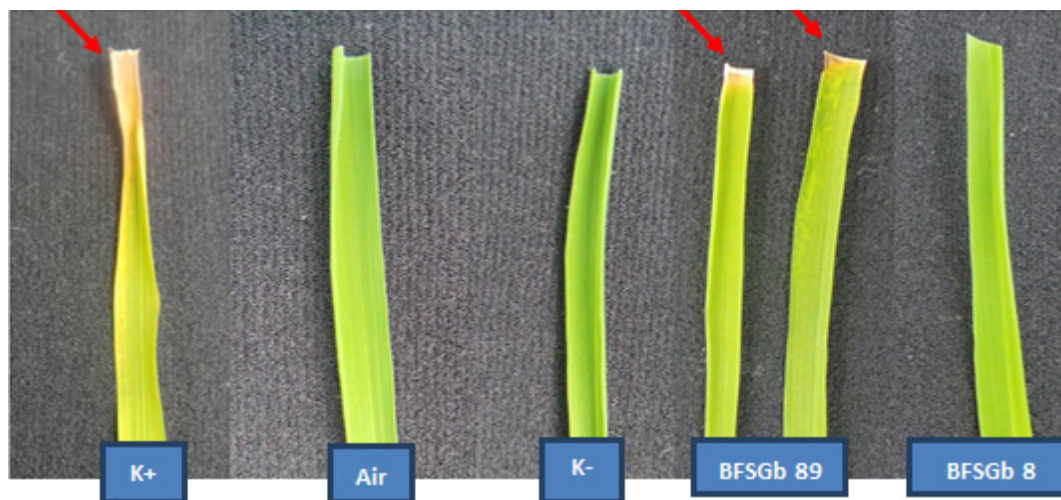
Sebanyak 58 isolat yang bersifat antagonis terhadap *Xoo* diuji reaksi *hypersensitive respon* (HR) yang ditimbulkannya pada tembakau. Reaksi HR yang ditimbulkan isolat-isolat bakteri filosfer yang patogenik teramati dengan jelas 48 jam setelah dilakukan infeksi. Reaksi yang sama juga ditunjukkan oleh daun tembakau yang diinokulasi dengan *Xoo* STG 21. Sebaliknya pada daun yang diinfeksi dengan *E. coli* DH5α dan akuades steril (kontrol negatif) tidak menunjukkan reaksi hipersensitif (Gambar 4). 58% dari total 58 isolat yang bersifat antagonis terhadap *Xoo* mengakibatkan timbulnya HR pada tanaman tembakau.

Uji Patogenisitas pada Padi. Uji pada tanaman padi menunjukkan 6 dari 24 isolat yang tidak

menyebabkan reaksi HR pada tembakau ternyata bersifat patogenik pada tanaman padi. Ini berarti bahwa bakteri yang menunjukkan hasil uji HR negatif pada tanaman tembakau tidak menjamin bahwa bakteri tersebut bersifat non patogenik pada semua jenis tanaman (Gambar 5).

Pewarnaan Gram dan Pewarnaan Endospora.
Pewarnaan Gram dilakukan untuk identifikasi awal

18 isolat bakteri filosfer terpilih. Hasil yang diperoleh menunjukkan 14 isolat bakteri berwarna ungu atau termasuk kelompok Gram positif, sedangkan 4 sisanya berwarna merah yang menunjukkan kelompok Gram negatif (Tabel 2). Sembilan dari 14 isolat yang bersifat Gram positif memiliki sel berbentuk batang dan 5 isolat (BFSGb 55, 64, 220, 238, dan 266) diantaranya memiliki endospora.



Gambar 5. Tampilan daun padi IR64 umur satu bulan setelah 14 hari infeksi dengan *Xoo* STG 21 (K+), akuades steril (Air), *E. coli* DH5a (K-), isolat BFSGb 89, dan isolat BFSGb 8. Anak panah menunjukkan gejala hawar atau nekrotik.

Tabel 2. Reaksi Gram dan keberadaan endospora pada 18 isolat bakteri filosfer non patogenik penghasil senyawa bioaktif anti *Xoo*

No.	Kode isolat	Jenis Gram	Bentuk sel	Penataan sel	Struktur endospora
1	BFSGb 8	Positif	Batang	Berantai dua	-
2	BFSGb 35	Positif	Kokus	Tunggal	-
3	BFSGb 55	Positif	Batang panjang	Berantai	+
4	BFSGb 64	Positif	Batang	Berantai	+
5	BFSGb 69	Positif	Batang	Berantai	-
6	BFSGb 88	Positif	Kokus	Tunggal	-
7	BFSGb 95	Positif	Kokus	Bergerombol	-
8	BFSGb 99	Negatif	Batang pendek	Tunggal	-
9	BFSGb 153	Negatif	Batang	Tunggal	-
10	BFSGb 162	Negatif	Batang	Berantai	-
11	BFSGb 183	Positif	Batang	Tunggal	-
12	BFSGb 185	Positif	Batang	Tunggal	-
13	BFSGb 202	Negatif	Batang panjang	Berantai dua	-
14	BFSGb 203	Positif	Kokus	Bergerombol	-
15	BFSGb 217	Positif	Kokus	Tunggal	-
16	BFSGb 220	Positif	Batang	Berantai	+
17	BFSGb 238	Positif	Batang	Tunggal	+
18	BFSGb 266	Positif	Batang	Berantai	+

Keterangan gambar : (+) terdapat endospora, (-) tidak terdapat endospora.

PEMBAHASAN

Bakteri filosfer merupakan bakteri yang hidup di permukaan daun tanaman, untuk mengisolasi bakteri filosfer dibutuhkan media yang sesuai dan mendukung pertumbuhannya. Dibandingkan dengan tiga media isolasi lainnya, jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada media NA (86 isolat) relatif lebih banyak dibandingkan dengan dengan jumlah koloni yang tumbuh pada media isolasi lainnya. NA adalah media non-selektif yang umum digunakan untuk menumbuhkan bakteri. Tingginya jumlah koloni yang tumbuh pada media NA diduga disebabkan oleh komposisinya yang mampu mendukung pertumbuhan kebanyakan bakteri. Media ini dapat digunakan untuk bakteri yang tidak membutuhkan kondisi khusus (Downes 2001). Jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada media LA (81 koloni) tidak jauh berbeda dengan jumlah koloni yang tumbuh pada media NA. Hal ini dapat disebabkan karena LA termasuk media yang bersifat non-selektif dan relatif kaya nutrisi yang umum digunakan untuk pertumbuhan bakteri (Bertani 1951).

Dibandingkan dengan media NA dan LA, jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada media TSA (53 koloni) dan jumlah koloni bakteri pada media KBA (65 koloni). Hal ini diduga karena komposisi nutrisi TSA yang relatif lebih sederhana dibandingkan dengan NA dan LA. Media KBA merupakan media isolasi yang relatif paling sederhana komposisi nutrisinya dan umum digunakan untuk isolasi bakteri filosfer. Penggunaan media yang tidak terlalu kaya nutrisi untuk isolasi bakteri filosfer ditujukan untuk menjaring kelompok bakteri yang tumbuh relatif lambat, sesuai dengan kondisi daerah filosfer yang relatif lebih terbatas ketersediaan nutrisinya (Lindow & Brandl 2003).

Keragaman isolat bakteri filosfer yang diperoleh dipengaruhi oleh kondisi lingkungan tempat pengambilan sampel dan jenis sampel yang diambil. Permukaan tanaman mengalami perubahan suhu yang cepat dan kelembaban dalam menanggapi adanya embun dan hujan. Selain itu, ketersediaan nutrisi pada permukaan tanaman juga mempengaruhi keragaman bakteri filosfer (Lindow & Brandl 2003). Pada umumnya bakteri filosfer dapat menahan stres lingkungan seperti paparan radiasi ultraviolet yang tinggi di permukaan daun. Ketahanan bakteri filosfer terhadap radiasi ultraviolet disebabkan antara lain produksi pigmen merah muda atau oranye atau polisakarida ekstraselular (EPS) yang melindunginya dari radiasi tersebut. EPS dapat juga melindungi bakteri dari keterbatasan air, membantu sel untuk menyesuaikan dengan permukaan daun, dan melindungi dari aktivitas senyawa antibiotik

atau antimikroba (Whipps *et al.* 2008). Selain itu, senyawa antimikroba yang diproduksi oleh beberapa bakteri filosfer dapat juga mempengaruhi keragaman bakteri filosfer (Lindow & Brandl 2003). Morris dan Kinkel (2002) menyatakan bahwa komunitas mikroba dari filosfer sangat beragam dan bakteri mempunyai kelimpahan dan variasi yang paling tinggi dengan rata-rata berkisar 10^2 sampai 10^{12} sel/g daun (Thompson *et al.* 1993; Inacio *et al.* 2002).

Beberapa bakteri filosfer dapat memproduksi suatu senyawa bioaktif untuk berkompetisi dengan mikroorganisme lain untuk memperoleh ruang dan nutrisi untuk tumbuh (Lindow & Brandl 2003). Senyawa antimikroba yang dihasilkan oleh suatu bakteri dapat menyebabkan interaksi yang bersifat antagonis antara bakteri penghasil senyawa tersebut dengan mikroba lain di sekitarnya. Keberadaan bakteri patogen tanaman dapat dihambat melalui mekanisme antagonis dari bakteri filosfer sehingga tidak menyebabkan penyakit pada tanaman.

Uji HR dan patogenesitas pada tanaman penting untuk dilakukan terhadap isolat-isolat bakteri yang memiliki potensi sebagai agen biokontrol. Pada habitatnya, bakteri filosfer dalam jumlah yang sedikit dapat tidak berpotensi sebagai patogen, namun dalam jumlah yang sangat banyak bakteri filosfer juga dapat berpotensi sebagai patogen pada tanaman inangnya untuk memperoleh nutrisi. Reaksi HR didefinisikan sebagai program kematian sel yang cepat dan terlokalisasi. Reaksi ini muncul pada tanaman yang terinfeksi saat pengenalan patogen dan merupakan usaha tanaman untuk menghambat pertumbuhan patogen (Zhu *et al.* 2000). Uji hipersensitivitas pada tanaman tembakau merupakan tahap awal yang umum digunakan untuk mengetahui potensi patogenesitas suatu mikroba terhadap tanaman. Berdasarkan hasil uji HR ini, diduga 34 isolat tersebut memiliki potensi sebagai patogen tanaman sehingga tidak digunakan sebagai bahan percobaan berikutnya.

Uji patogenesitas pada tanaman padi dilakukan dengan cara melukai ujung daun padi yang akan diinokulasi. Pelukaan pada padi terjadi di alam antara lain akibat gesekan antara daun padi karena angin, gigitan binatang, atau kontak fisik dengan manusia. Luka akibat gesekan tersebut dapat menjadi lubang masuknya bakteri patogen ke dalam tanaman padi. Melalui luka tersebut, bakteri kemudian bergerak sambil memperbanyak diri menuju xilem. Bakteri juga dapat masuk pada tanaman padi melalui lubang alami seperti hidatoda, seperti cara *Xoo* menginfeksi daun padi (Ou 1985). Namun, infeksi bakteri lebih mudah terjadi melalui bagian daun yang terluka (Gnanamanickam *et al.* 1999). Pertimbangan penggunaan teknik pelukaan ini berdasar pada

entry point yang efektif untuk proses infeksi *Xoo*. Diharapkan dengan cara ini selain diperoleh isolat bakteri filosof yang memiliki kemampuan untuk menghambat perkembangan *Xoo* pada relung ekologi yang sama melalui mekanisme kompetisi (ruang dan nutrisi) dan atau antagonisme, diharapkan isolat tersebut juga mampu melindungi tanaman padi dari infeksi *Xoo* pada *entry point*-nya tanpa adanya kekhawatiran isolat itu sendiri akan menyebabkan penyakit pada tanaman padi.

Lebih dominannya kelompok bakteri gram positif yang diperoleh sesuai dengan hasil penelitian Zhang *et al.* (2010) dan Mwajita *et al.* (2013) yang menunjukkan bahwa komonitas mikroba filosof mempunyai potensi fisiologis dan jumlah bakteri Gram positif yang tinggi dibandingkan bakteri Gram negatif. Keberadaan struktur endospora dan sifat aerobik dari ketiga isolat tersebut mengindikasikan bahwa ketiganya termasuk ke dalam kelompok *Bacillus*. Keberadaan kelompok *Bacillus* pada filosof dalam persentase yang cukup besar juga telah dilaporkan dari filosof tanaman padi (Mwajita *et al.* 2013).

KESIMPULAN

Sebanyak 285 isolat bakteri filosof berhasil diisolasi dari tanaman padi varietas Ciherang umur 2.5 bulan yang berasal dari persawahan Situgede, Dramaga, Bogor. 58 isolat dari total isolat memiliki kemampuan menghasilkan senyawa bioaktif anti *Xoo*. Uji patogenisitas pada tanaman menunjukkan 18 isolat tidak berpotensi patogenik pada tanaman tembakau dan padi. Berdasarkan pewarnaan Gram terhadap 18 isolat tersebut, 14 isolat termasuk bakteri Gram positif, 4 bakteri Gram negatif, dan 5 diantaranya diduga *Bacillus*. Aktivitas penghambatan terhadap *Xoo* mengindikasikan adanya potensi kemampuan isolat-isolat tersebut sebagai agen pengendali hayati untuk *Xoo* yang merupakan penyebab penyakit hawar daun padi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dibiayai oleh Hibah Kompetensi DIKTI 2014. Oleh karena itu penulis mengucapkan terima kasih atas dukungan dana dan kepercayaan untuk melakukan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Bertani G. 1951. Studies on lysogenesis. I. The mode of phage liberation by lysogenic *Escherichia coli*. *J Bacteriol* 62:293-300.
Dinh HD, Oanh NK, Toan ND, Van du P, Loan LC. 2008. Pathotype profile of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* isolates from the rice ecosystem in cuulong river Delta. *Omonrice*

16:34-40.
Dowling DN, O'Gara F. 1994. Metabolites of *Pseudomonas* involved in the biocontrol of plant disease. *Tibtech* 12:133-141.
Downes FP, Ito K. 2001. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. Washington D.C :American Public Health Association.
Gnanamanickam SS, Priyadarisini VB, Narayanan NN, Vasudevan P, Kavitha S. 1999. An overview of bacterial blight disease of rice and strategies for its management. *Curr. Sci* 77:1435-1443.
Hanarida I, Utami DW, Kadir TS, Koerniati S. 2007. Galur padi baru tahan hawar daun bakteri. *Warta Penelitian dan Pengembangan Pertanian* 20(1):5-6.
Hastuti DH, Lestari Y, Suwanto A, Saraswati R. 2012. Endophytic *Streptomyces* spp. as biocontrol agents of rice bacterial leaf blight pathogen (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*). *Hayati* 19(4):155-162.
Inacio J, Pereira P, de Carvalho M, Fonseca A, Amaral-Collaco MT, Martins IS. 2002. Estimation and diversity of phylloplane mycobiota on selected plants in a mediterranean-type ecosystem in Portugal. *Microb. Ecol* 44:344-353.
Lay BW. 1994. Analisis Mikrobiologi di Laboratorium. Jakarta :PT. Grafindo Persada.
Lindow SE, Brandl MT. 2003. Microbiology of the phyllosphere. *Appl Environ Microbiol* 69:1875.
Lisboa MP, Bonato D, Bizani D, Henriques JAP, Brandelli A. 2006. Characterization of bakteriosin-like substance produced by *Bacillus amyloliquefaciens* isolated from the Brazilian atlantic forest. *Int Microbial* 9:111-118.
Morris CE, Kinkel LL. 2002. Fifty years of phyllosphere microbiology: significant contributions to research in related fields. In: Phyllosphere Microbiology. (eds.) Lindow, S.E., E.I. Hecht-Poinar and V.J. Elliott. St Paul : APS Press.
Mwajita MR, Murage H, Tani A, Kahangi EM. 2013. Evaluation of rhizosphere, rhizoplane and phyllosphere bacteria and fungi isolated from rice in Kenya for plant growth promoters. *SpringerPlus* 2:606.
Ou, SH. 1985. *Rice Disease*. 2nd. England : Kiew Surrey.
Sudir, Nuryanto B, Kadir TS. 2012. Epidemiologi, patotipe, dan strategi pengendalian penyakit hawar daun bakteri pada tanaman padi. *Iptek Tanaman Pangan* 7(2): 79-87.
Thompson IP, Bailey MJ, Fenlon-Fermor TR, Lilley AK, Lynch JM, McCormack PJ, McQuilken MP. 1993. Quantitative and qualitative seasonal changes in the microbial community from the phyllosphere of sugar beet (*Beta vulgaris*). *Plant. Soil* 150:177-191.
Wahyudi AT, Meliah S, Nawangsih AA. 2011. *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* bakteri penyebab hawar daun pada padi: isolasi, karakterisasi, dan telaah mutagenesis dengan transposon. *Makara Sains* 15: 89-96.
Whipps JM, Hand P, Pink P, Bending GD. 2008. Phyllosphere microbiology with special reference to diversity and plant genotype. *J Appl Microbiol* 105:1744.
Zhang B, Bai Z, Hoefel D, Wang X, Zhang L, Li Z. 2010. Microbial diversity within the phyllosphere of different vegetable species. *Formatex* 1067-1077.
Zhu W, Magbanva MM, White FF. 2000. Identification of two novel hrp-associated genes in the hrp gene cluster of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *J Bacteriol* 182(7):1844-1853.
Zou LF, Wang XP, Xiang Y, Zhang B, Li YR, Xiao YL, Wang JS, Walmsley AR, Chen GY. 2006. Elucidation of the hrp clusters of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* that control the hypersensitive response in nonhost tobacco and pathogenicity in susceptible host rice. *Appl. Environ Microbiol* 72:6212-6224.